

## ⑯公開特許公報 (A)

昭54-46899

⑯Int. Cl.<sup>2</sup> 識別記号 ⑯日本分類  
 C 12 J : 1/04 // 103 36(5) E 3  
 C 12 D 1/02 36(2) D 24

庁内整理番号 ⑯公開 昭和54年(1979)4月13日  
 7258-4B  
 7822-4B 発明の数 1  
 審査請求 未請求

(全 6 頁)

## ⑯食酢の製造方法

⑯特 願 昭52-111242  
 ⑯出 願 昭52(1977)9月17日  
 ⑯發明者 正井博司  
 同 半田市雁宿町2-110-4  
 大森昭治  
 東京都文京区千石4-38-12

⑯發明者 有馬啓  
 東京都文京区西片2-7-15  
 同 別府輝彦  
 東京都杉並区堀の内1-5-21  
 ⑯出願人 株式会社中埜酢店  
 半田市中村町2丁目6番地  
 ⑯代理人 弁理士 坂田順一

## 明細書

## 1. 発明の名称

食酢の製造方法

## 2. 特許請求の範囲

アセトバクター属に属し、4%以上のお酢酸、および酒精を含有する液体培地で35~40°Cの温度での深部発酵において生育旺盛でかつ酢酸生成力の強い酢酸菌を、酢酸および酒精を含有する液体培地に接種し、35~40°Cの温度で深部発酵を行なうことを特徴とする食酢の製造方法。

## 3. 発明の詳細な説明

本発明は35~40°Cという高温度で深部発酵を行なつて食酢を製造する方法に関する。

従来、醸造酢の製造方法としては、発酵法の面からは静置発酵法と深部発酵法の2つの方法が行なわれている。

この両発酵法における発酵温度としては、酢酸菌の増殖および酢酸生成の最適温度である30°C近辺が最適であるとされている。そして特に深部

発酵法においては、安定した酢酸発酵を行なわせるために、培養温度の管理を厳格に行なう必要があり、通常酢酸菌の増殖に伴い生ずる発酵熱を冷却水を通じることにより吸収して培養温度を一定に保つように管理している。すなわち深部発酵法での酢酸発酵の場合、30°Cの培養温度に対し2~3°Cの変動があつても、酢酸菌の生育および酢酸生成速度の著しい低下をきたすことが知られているからである。

しかし、発酵装置の設置面積、労力の点で静置発酵に比べて有利な深部発酵を35~40°Cの高温度で行なうことができれば、30°Cの発酵温度の場合に比べ冷却水を著しく節減することが可能で経済的に有利になる。

しかしながら、従来知られている酢酸菌を用い35°C以上の培養温度で深部発酵法により酢酸発酵を実施した場合には、酢酸菌の生育および酢酸生成力が著しく低下するかあるいは皆無となるため、従来35°C以上という高い発酵温度で深部発酵により食酢を工業的生産することは、非常に困

to the Existence of Intermediate Strains) にて  
従つた。

なおまた、モルトエキス-ブドウ糖寒天培地はモルトエキス20g, ブドウ糖10gを蒸溜水1lに溶解し、pHを6.5に調節したものであり、炭酸カルシウム含有酵母エキス-ブドウ糖斜面培地は酵母エキス5g, ブドウ糖30g, 寒天20gを蒸溜水1lに溶解し、炭酸カルシウム2.0% (W/V) を添加したものであり、エタノール含有酵母エキス-ブドウ糖液体培地は酵母エキス5g, ブドウ糖30gを蒸溜水1lに溶解後、pHを6.5に調節し、滅菌したのち、エタノールを4% (V/V) 無菌的に添加したものであり、ペプトン水液体培地はペプトン1.0gを1lの蒸溜水に溶解後、pHを6.5に調節したものである。

さらに耐酢酸濃度の決定は、水道水1lにつき酵母エキス5g, ポリペプトン2g, ブドウ糖30g, 酢酸3.0~5.0%, エタノール4.0~6.0%を含有する培地を用い、深部発酵法による半連続発酵法によりおこなつた。

難とされていたのである。

そこで本発明者等は、醸造酢の工業的生産の見地から4%以上の酢酸、および酒精を含有する液体培地で35~40℃の高温で深部培養した場合に旺盛に増殖し、かつ酢酸生成力の強い酢酸菌を求めて種々研究した結果、ついにこの目的に適うアセトバクター属に属する酢酸菌を見い出した。

この酢酸菌は食酢発酵より分離されたもので、その菌学的性質は下記の如くである。

なお菌学的性質に関する実験方法は、医科学研究所学友会編「細菌学実習提要」(1968年)および「ザ・ジャーナル・オブ・ジェネラル・アンド・アプライド・マイクロバイオロジー (The Journal of General and Applied Microbiology) 第10巻、第2号第25~126頁(1964年)」のザ・フラグレーション・アンド・タクソミー・オブ・ジェネラル・グルコバクター・アンド・アセトバクター・ウイス・リファレンス・ツウ・ザ・エグジスタンス・オブ・インター・メディエート・ストレインズ (The Flagellation and Taxonomy of General Gluconobacter and Acetobacter with Reference

### I. 形態的所見

形 状	短桿状
大 き さ	0.5~0.7×1.0~1.2μ
集 団	単細胞もしくは双細胞
運 動 性	無 し
胞子形成	形成せず
グラム染色	陰 性
抗 酸 性	無 し

### II. 培養的所見

①モルトエキス-ブドウ糖寒天平板培養  
(30℃で5日間培養)

形 状	円 形
辺 緣	平滑で全縁
隆 起	半球形
光 沢	無 し
表 面	平 滑
色 調	灰白色で光沢なし

②炭酸カルシウム含有酵母エキス-ブドウ糖斜面培養  
(30℃で2日間培養)

生育の良否 良 好。

隆 起 中程度

表 面 平 滑

辺 緣 平滑で全縁

色 調 灰白色で光沢なし

透 明 度 不透明

③エタノール含有酵母エキス-ブドウ糖液体静置培養  
(30℃で4日間培養)

生育良好。灰白色で平滑な菌膜を形成する。  
菌膜はもろく、こわれやすい。培養液は透明。

④ペプトン水液体静置培養  
(30℃で4日間)

生育乏しい。灰白色の極めて薄い菌膜を形成する。培養液は透明。

⑤ブドウ糖含有肉エキス液体静置培養  
(30℃で4日間培養)

生育良好。灰白色で平滑な菌膜を形成する。  
菌膜はもろくこわれ易い。培養液は透明。

⑥加糖肉汁ゼラチン高層培養(20℃で7日間培養)  
液化性無し

⑦リトマスマルク(30℃で7日間培養)

凝固性無し

## III. 生理学的性質

① 硝酸塩の還元：無し  
 ② 脱氫反応：無し  
 ③ V-P テスト：陰性  
 ④ インドールの生成：無し  
 ⑤ 硫化水素の生成：無し  
 ⑥ デンプンの加水分解：無し  
 ⑦ クエン酸の利用  
     Koser の培地：無し  
     Christensen の培地：無し  
 ⑧ 無機窒素源の利用  
     硝酸塩：無し  
     アンモニウム塩：有り  
 ⑨ 色素の生成：無し  
 ⑩ ウレアーゼ活性：無し  
     オキシダーゼ活性：無し  
 ⑪ カタラーゼ活性：有り  
 ⑫ 生育 pH 範囲：3.2～7.0  
 最適 pH 範囲：4.2～5.6

⑬ 生育温度範囲：10～42°C.

最適温度範囲：33～38°C.

⑭ 酸素に対する態度：好気的

⑮ 2-ケトグルコン酸の生成：無し

⑯ ジオキシアセトンの生成：無し

⑰ エタノールの資化性：エタノールを資化し酢酸を生成する。

⑱ 酢酸の資化性：資化性有り

⑲ ビタミン要求性：無し

⑳ 耐酢酸濃度：30°C；11%

37°C；9%

40°C；7%

## IV. 炭素源からの酸およびガスの生成

炭素源	酸の生成	ガスの生成
L-アラビノース	+	-
D-キシロース	+	-
D-グルコース	+	-
D-マンノース	+	-
D-フラクトース	-	-
D-ガラクトース	+	-
麦芽糖	-	-
シロ糖	-	-
乳糖	-	-

トレハロース	+	-
D-ソルビット	-	-
D-マンニト	-	-
イノシット	-	-
グリセリン	-	-
デンプン	-	-

(注) +：生成する

-：生成しない

バージィズ・マニュアル・オブ・デタミネイテブ・バクテリオロジー (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology) 第 8 版によれば、上記した菌学的性質を有する本酢酸菌はアセトバクター・アセティーに属するものと判定されるが、アセトバクター・アセティーに属する菌株で 35～40°C の培養温度で酢酸を 4% 以上含有する培地で深部培養する場合に増殖する菌株はいまだ知られていない。よつて本酢酸菌はアセトバクター・アセティーに属する新菌と見なし、アセトバクター・アセティー 2-550 と命名した。

本酢酸菌と既知酢酸菌のうちアセトバクター属に属する代表的な菌株について、ノル容積のシャー

フアメンターを用い、酢酸 4% および酒精を含有する液体培地 (酵母エキス 5%, ポリペプトン 2%, ブドウ糖 3.0%, 酢酸 4.0%, 酒精 3.0% を含有) で 35°C, 37°C および 40°C の培養温度で 2 時間深部培養をおこなつた結果を第 1 表に示す。

第 1 表

菌株	培養温度		
	35°C	37°C	40°C
アセトバクター・アセティー IFO 3281	-	-	-
アセトバクター・アセティー IFO 3283	-	-	-
アセトバクター・アセティー IFO 3284	-	-	-
アセトバクター・アセンデンス IFO 3188	-	-	-
アセトバクター・ランセンス IFO 3297	-	-	-
アセトバクター・ランセンス NRR L-B65	-	-	-
アセトバクター・キシリナム IFO 3144	-	-	-
アセトバクター・キシリナム IFO 3288	-	-	-
本酢酸菌	++	++	+

(注) -：生育及び酢酸の生成無し

+：生育及び酢酸の生成少々有り

++：生育及び酢酸の生成かなり有り

+++：生育及び酢酸の生成旺盛

第1表の結果から、本酢酸菌だけが酢酸を多く  
および酒精を含有する培地で35~40℃の温度で  
深部培養が可能なことがわかる。

なお本酢酸菌(アセトバクター・アセティ-2-  
タ-50)は工業技術院微生物工業技術研究所に  
微生物保管委託申請書受付番号第44/195号として  
寄託されている。

本発明は上記の発見に基いて完成されたもので  
あつて、本発明はアセトバクター属に属し、4%  
以上の酢酸、および酒精を含有する液体培地で35~  
40℃の温度での深部培養において生育旺盛でか  
つ酢酸生成力の強い酢酸菌を酢酸および酒精を含  
有する液体培地に接種し、35~40℃の温度で深部  
発酵を行なうことを特徴とする食酢の製造方  
法である。

本発明の使用菌としては、上記したアセトバク  
ター・アセティ-2-タ-50ばかりでなく、この  
酢酸菌を微生物を変異させる手段(例えばX線照  
射、紫外線照射、薬品処理など)で変異させた菌  
は勿論のこと、アセトバクター属に属し、4%以

特開昭54-46899(4)  
上の酢酸、および酒精を含有する液体培地で35~  
40℃の温度での深部培養において生育旺盛でか  
つ酢酸生成力の強い酢酸菌であればすべて使用す  
ることができる。

本発明で用いる深部発酵用容器としては特に制  
限はなく、通気搅拌が可能で無菌操作が出来るも  
のであればよいが、主原料であるアルコール、主  
成分である酢酸が共に揮発性であるため比較的小  
量の通気で培養醪に充分の空気が混合されるよう  
な装置であるのが望ましい。

つぎに本発明で用いる液体培地としては、醸造  
酢の原料として通常用いられている、穀類、果実、  
酒粕等を洗浄、破碎、蒸煮、糖化等の常法による  
原料処理手段で処理した後、酒精発酵して得た醪  
もしくはこの醪のエタノール濃度を適当に調節し  
たものに酢酸を加えた培地、或は炭素源、窒素源、  
無機物、酢酸およびエタノールの適量を含有する  
天然液体培地または半合成液体培地のいずれでも  
用いることができる。

上記培地の炭素源としては例えばブドウ糖、水

脂、糖みつ、廃糖みつなどが、窒素源としては例  
えば酵母エキス、ポリペプトン、肉エキス、カゼ  
イン加水分解物などが、無機塩としては例え  
用いられ  
ば  $KH_2PO_4$ 、 $Na_2HPO_4$ 、 $(NH_4)_2HPO_4$ 、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  な  
どを用いることができる。

液体培地のエタノール濃度は6容量%以下が好  
ましく、本発明における使用菌の増殖およびエタ  
ノール酸化の良好さから4%容量%以下であるこ  
とが特に好ましい。

液体培地の酢酸濃度は1%重量%以下がよく、  
4~7重量%が特に好ましい。

つぎに深部発酵の条件としては、培養温度は35~  
40℃であるが、35~38℃が特に優れている。

通気量は培養醪の容積の10~30%の空気量  
が好ましく、20~25%が特に好ましい。空気  
の代りに酸素を用いてもよい。空気または酸素は  
除菌装置を通して供給するのがよい。

発酵容器の搅拌機の回転は毎分500~1000  
回転の範囲で行なうのがよい。

本発明にしたがつて深部発酵を行なう場合、目

的の酸度に到達した時に0.3%~0.5%のアル  
コールを残して培養を停止するいわゆる回分発  
酵、あるいは回分発酵において目的の酸度に達し  
た時通気搅拌を止めることなく発酵液の一部をと  
り出し、その後新しい原料醪を添加し再び発酵を行  
なわせるというサイクルをくり返すいわゆる連  
続式回分発酵法(半連続発酵法)、あるいは目的  
の酸度に到達した時新しい原料醪を少量づつ連続  
的に添加すると同時に発酵液を少量づつ取り出す  
という連続発酵のいづれの方式で発酵を行なつて  
もよい。しかし本発明は、高温度でしかも比較的  
高酸度で酢酸菌の増殖がくり返されなければならない  
連続発酵を行なう場合に特に優れている。

そしていづれの方式においても、発酵開始時の  
種培養の接種量は本培養液の10~30容量%が  
望ましい。なお回分式および半連続発酵における  
一回の発酵期間は20~35時間で行なうことができる。

またいづれの方式においても、エタノールの揮  
散による損失を防ぐために適切なエタノールの回

収装置を設けることが経済上望ましい。

本発明により得られた発酵液は沪過、2~3カ月間の熟成、殺菌等の処理をした後、醸造酢製品とする。

次に本発明の実施例を示す。

#### 実施例 1

水道水100ml当り酵母エキス5g、酒粕2g、ブドウ糖10g、エチルアルコール45.2g、酢酸27.2gを含有する培地100mlを30ml容積のジャーフアーメンターに入れ、培地を殺菌の目的で35°Cで5分間加熱し、35°Cに冷却した後、これに水道水100ml当り酵母エキス5g、酒粕10g、ブドウ糖20g、エチルアルコール30g、酢酸2gを含有する培地で500ml容の肩付振盪フラスコで37°Cで20時間培養したアセトバクター・アセテイー-2-550(微生物保管委託申請書受理番号第4195号)の種培養液2mlを接種し、35°Cの培養温度で除菌フィルターを通して空気を通じつつ深部培養を開始した。通気量は毎分2ml、回転数は毎分200回転でおこなつた。

特開昭54-46899(5)  
培養開始時の酢酸濃度は1.05%、菌体量を示す吸光度は0.435(660 <sup>220</sup> m<sup>u</sup>, 1cmセル)であつた。

酢酸濃度が約2.20%、吸光度が1.035になつた25時間後に連続発酵に入り、発酵液の一部分を取り出すとともに35°C, 5分間加熱殺菌した酢酸濃度1.5%、アルコール濃度4.5%の原料醪を取り出した発酵液に相当する量連続的に添加した。連続発酵を開始して62時間後に発酵液の酢酸濃度は約6.5%、吸光度は1.155で発酵状態は安定した。以後23時間にわたつて35°Cで深部発酵による連続発酵をおこなつた。

その後、37°Cに培養温度を上昇させ連続発酵を継続したが、発酵液の酢酸濃度は約6.0%で安定であつた。以後106時間37°Cで連続発酵をおこなつた。

取出した発酵液は貯蔵後、沪過殺菌して食酢を得た。

#### 実施例 2

80ml容の通気発酵タンクに林檎果汁アルコ

ル発酵液、酢酸発酵液および酵母エキスをもつて調製した林檎酢用仕込み醪50mlを、酢酸濃度4%、アルコール濃度4%になるように仕込み、35°Cで5分間殺菌後、37°Cまで冷却した培地に、無菌空気を通じながら攪拌を開始し、実施例1に記載したと同様に調製したアセトバクター・アセテイー-2-550(微生物保管委託申請書受理番号第4195号)の種培養液2mlを接種し、37°C±0.5°Cを維持しながら通気攪拌して深部発酵を行なつた。誘導期の経過後、酸度の上昇が開始し酢酸濃度が約2.3%になりアルコール濃度が約0.3%になつた時通気攪拌を止めることなく、その発酵液の約半量をとり出し、それに林檎果汁醸酵液、酢酸発酵液および酵母エキスを添加して調製した酢酸濃度2%、アルコール濃度約5.8%の林檎酢原料醪を取り出した発酵液に相当する量だけ満たし、深部発酵を行なわせ、更に酢酸濃度が約2.03%、アルコール濃度が約0.25%になつた時に発酵液の約半量を取り出し、再度上記した林檎酢原料醪を満たし、深部発酵を行なわせるというよう

なサイクルを繰り返す半連続発酵により林檎酢の製造をおこなつた。

そして取り出した発酵液は貯蔵後、沪過殺菌し塗詰をおこない食酢製品を得た。

出願人 株式会社 中埜酢店

代理人 弁理士 坂田順一

## 手 続 補 正 書

昭和53年1月30日

特許庁長官 熊 谷 善 二 殿

## 1. 事件の表示

昭和52年特許第111242号

## 2. 発明の名称

食酢の製造方法

## 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 愛知県半田市中村町2丁目6番地

名称 株式会社 中 垣 酢 店

代表取締役 中 垣 又 左 工 門

## 4. 代理人

住所 郵便番号 171

東京都豊島区南池袋二丁目12番5号(英ビル)

氏名 (6946) 弁理士 坂 田 順 一

電話 (984) 2023

## 5. 補正命令の日付

自 発 補 正

## 6. 補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄

## 7. 補正の内容

(1) 明細書第11頁第5行～第6行の「微生物保管委託申請書受理番号第4195号」を「微研菌寄第4195号(FERM-P NO.4195)」と訂正します。

(2) 明細書第15頁第16行～第17行、および第17頁第2行～第3行の「(微生物保管委託申請書受理番号第4195号)」を「(微研菌寄第4195号)」と訂正します。

## 8. 添附書類の目録

(1) 微生物受託番号通知書(微研第3820号)(写) / 通

代理人 弁理士 坂 田 順 一